

UJI TOKSISITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* dari Kabupaten Lahat, Palembang, Sumatera Selatan TERHADAP LARVA NYAMUK *Culex* sp.

Welianto Chandra, A. Wibowo Nugroho Jati. , B. Boy Rahardjo Sidharta

Program Studi Biologi Fakultas Teknobiologi
Universitas Atma Jaya, Yogyakarta
Alamat: Jalan Babarsari No.44 Yogyakarta 55281
Email: wellz_phoenix_jokerzzz@yahoo.com

Abstract

This study aims to determine the optimal concentration of isolates of *Bacillus thuringiensis* to control larvae of the mosquito *Culex* sp. The method used is the isolation of the bacterium *Bacillus thuringiensis*, then the inoculation of bacteria. *Bacillus thuringiensis* mud samples, as much as 25 grams, obtained in the area of Lahat, South Sumatra containing *Bacillus thuringiensis* which includes five districts, namely Sub Gumay Talang, Jaray, Kikim West, South Kikim, and Central Kikim. Gumay Subdistrict Talang, includes the village of Muara Tandil, Batay, and Darmo. Subdistrict Jaray, covering the Village Coral Slam and Lawang Agung Lama. Kikim West Subdistrict, covering Bandarjaya and Lubuk Seketi. District of South Kikim, covering Beringin Jaya, and the District of Central Kikim, covering Lingsing Muara Village and Talbot. After that, the Gram staining process is carried to see the characteristics of the bacteria *Bacillus thuringiensis*. Preparation instar larvae of *Culex* mosquitoes for testing the toxicity of three isolates of the bacterium *Bacillus thuringiensis*. Toxicity testing of bacterial isolates of *B. thuringiensis* against *Culex mosquito* larvae mortality begins with a series of dilutions of 10^{-4} to 10^{-6} . Optimal concentration that kills mosquito larvae *Culex* is the serial dilution of 10^{-4} on each repetition of the existing sample. *B. thuringiensis* bacterial isolates taken at Muara Tandil Village, Lawang Agung Lama, Bandarjaya and Muara Lingsing able to kill the larvae of *Culex* mosquitoes by 10 individuals. This shows that the bacterial isolates of *B. thuringiensis* samples taken at Muara Tandil Village, Lawang Agung Lama, Bandarjaya and Muara Lingsing has potential as a source of bacterial isolates of *B. thuringiensis*.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, *Culex* sp. larvae, and crystal protein

PENDAHULUAN

Indonesia secara geografis terletak pada 6⁰ LU - 11⁰ LS dan 95⁰ BT - 141⁰ BT dan berada tepat pada garis lintang khatulistiwa. Hal tersebut menyebabkan Indonesia memiliki curah hujan yang tinggi dan beriklim tropis. Iklim Indonesia yang lembab menjadikan Indonesia memiliki banyak hutan hujan tropis. Hutan hujan tropis sendiri menjadi tempat hidup bagi hewan dan tumbuhan. Nyamuk adalah hewan yang tidak memberikan dampak menguntungkan bagi manusia, melainkan merugikan bagi manusia karena nyamuk sebagai vektor penyakit tertentu, seperti demam berdarah dan chikungunya. Iklim Indonesia yang lembab sangat cocok untuk perkembangan nyamuk, khususnya pada musim penghujan (Kristina, 2004). Nyamuk merupakan vektor penyakit menular, contohnya adalah penyakit demam berdarah yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*, penyakit malaria yang disebabkan oleh nyamuk *Anopheles*, dan penyakit chikungunya yang disebabkan oleh nyamuk *Culex*.

Penyakit chikungunya di Indonesia dilaporkan pertama kali di Samarinda pada tahun 1973, kemudian berjangkit di Kuala Tungkal, Jambi tahun 1980. Tahun 1983 merebak di Martapura, Ternate, dan Yogyakarta (Kristina, 2004). Setelah menghilang hampir 20 tahun, kejadian luar biasa (KLB) demam Chikungunya terjadi pada awal tahun 2001 di Muara Enim, Sumatera Selatan dan Aceh, kemudian muncul di Bogor bulan Oktober. Demam Chikungunya berjangkit lagi di Bekasi (Jawa Barat), Purworejo dan Klaten (Jawa Tengah) pada tahun 2002. Selanjutnya berkembang hingga sekarang ke berbagai wilayah lain di Indonesia (Laras dkk., 2005).

Studi tentang *Bacillus thuringiensis* saat ini sangat menarik karena masih sedikit orang yang memanfaatkan dan mengaplikasikan mengenai penelitian ini sehingga diharapkan dapat berkembang dengan lebih baik dan maju. Telah diketahui bakteri ini terdiri atas banyak galur yang berbeda sifatnya. Saat ini dikenal lebih dari 700 varietas atau strain Bt, dan penemuan varietas atau strain baru terus berlanjut. Strain *Bacillus thuringiensis* diklasifikasikan menjadi 29 subspecies dan lebih dari 40 badan inklusi (δ -endotoksin) serta gen *cry* protein berhasil diisolasi (Kristina, 2004). Di antara varietas yang telah dikenal, terdapat 2 varietas utama yang telah dikembangkan dan diproduksi, yaitu *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* dan *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki* (Mardihusodo, 1992; Bahagiawati, 2002; Widyastuti dkk., 2004).

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Lahat yang meliputi lima Kecamatan yang berbeda, yaitu Kecamatan Gumay Talang, Jaray, Kikim Barat, Kikim Selatan, dan Kikim Tengah.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknobiologi-Industri, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta untuk isolasi bakteri Bt sedangkan pengujian efek toksisitas akan dilakukan di Laboratorium Teknobiologi-Lingkungan. Waktu penelitian dilaksanakan selama empat bulan, yaitu pada bulan Januari – April 2015.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah plastik berklip, sendok teh, alat tulis, timbangan analitik merek *Kenko*, tabung reaksi, pipet ukur 10 ml, labu erlemeyer 1000 ml, cawan petri, jarum ose, incubator, pipet mikro, vortex mixer merek *Hwasin*, sentrifuge, Autoclave merek *Hirayama*, waterbath model NTS-40008BM, haemocytometer, handcounter, lampu spritus, sendok teh, pinset, kulkas, ruang steril, gelas air volume 250 cc, kain kasa, gelas benda, gelas penutup, kertas aluminium foil, kertas tissue, kertas payung, kapas, gelas ukur, stopwatch tipe analog, buku catatan, aquarium ukuran 30x20x10 cm, dan sangkar nyamuk.

Bahan-bahan yang digunakan adalah alkohol 70 %, sampel endapan lumpur yang didapatkan di wilayah Lahat, Sumatera Selatan sebanyak 25 gram yang mengandung *Bacillus thuringiensis* yang meliputi lima kecamatan masing-masing kecamatan dilakukan pengulangan sampel sebanyak lima sampel, nutrisi agar (NA), larutan ringer, larutan garam, larutan Smirnov, aquades, dan larva *Culex* instar tiga yang didapatkan di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta sebanyak 100 ekor.

Cara Kerja

1. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari endapan lumpur sawah bagian atas. Lokasi pengambilan sampel akan dilakukan di kabupaten Lahat, Palembang, Sumatera Selatan yang mencakup lima kecamatan dan lima kelurahan. Sampel endapan lumpur dari sawah diambil dari endapan yang terdapat pada saluran air. Sampel endapan lumpur tersebut diambil dengan sendok kecil pada endapan tanah bagian dasar rawa dengan berat 25 gram dengan melakukan pengulangan sampel sebanyak lima kali, dimasukkan ke dalam plastik berklip lalu diberi label. Sampel endapan lumpur dibawa ke dalam laboratorium.

2. Isolasi *Bacillus thuringiensis*

- 1) Diambil 1 gr sampel endapan lumpur, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan air steril untuk menghasilkan suspensi tanah. Suspensi dikocok hingga homogen.
- 2) Selanjutnya, dari suspensi tersebut dibuat seri pengenceran 10^{-4} . Dari pengenceran 10^{-4} diambil masing-masing 0,1 ml untuk diinokulasikan ke dalam medium Nutrien Agar secara *surface plate*.
- 3) Selanjutnya petridis dibungkus dengan kertas sampul steril dan diletakkan dengan posisi terbalik dan diinkubasikan pada suhu kamar, yaitu 20-25°C selama 48 jam.
- 4) Seleksi awal untuk memperoleh koloni yang diduga sebagai anggota spesies *Bacillus thuringiensis* dilakukan berdasarkan karakteristik bentuk koloni, dan warna koloni.

Koloni yang dipilih adalah yang memiliki sel vegetatif berbentuk batang dengan ukuran panjang 3-5 μm dan lebar 1,0-1,2 μm .

3. Uji Kemurnian Bakteri

1 Uji Biokimia

Biakan murni *Bacillus thuringiensis* dari medium agar miring diinokulasi menggunakan jarum ose. Kemudian, biakan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham dan medium glukosa, sukrosa, dan laktosa cair. Setelah itu, ditambahkan dengan *Phenol Red* hingga warna medium menjadi merah pekat. Kemudian, setiap medium diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah diinkubasi, perubahan warna yang terjadi pada setiap medium diamati.

2 Uji Motilitas

Biakan murni *Bacillus thuringiensis* dari medium agar miring diinokulasi menggunakan jarum ose. Kemudian, biakan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium agar tegak. Setelah itu, medium tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah diinkubasi, pertumbuhan *Bacillus thuringiensis* pada bekas tusukan diamati.

3 Uji Reduksi Nitrat

Biakan murni *Bacillus thuringiensis* dari medium agar miring diinokulasi menggunakan jarum ose. Kemudian, biakan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium nitrat cair. Setelah itu, medium tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Kemudian, Asam sulfanilat (SA) dan Alphanaptilamin (NED) ditambahkan ke dalam tabung tersebut sebanyak 1ml. Terakhir, perubahan warna merah yang terjadi diamati yang menunjukkan adanya nitrit.

4 Pengecatan Gram

- 1) Gelas benda dicelupkan ke dalam botol yang berisi alkohol 70 % kemudian dikeringkan dengan kertas tisu.
- 2) Gelas benda ditetesi dengan satu tetes aquades steril. Isolat bakteri diambil secara aseptis dengan jarum ose dan dioleskan di gelas benda yang ditetesi aquades steril, diratakan, dikering anginkan dan difiksasi (5-7 kali) di atas nyala lampu spiritus.
- 3) Setelah kering ditetesi reagen A sebanyak satu tetes dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir.
- 4) Preparat yang masih basah ditetesi reagen B sebanyak satu tetes, didiamkan selama 20 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir, dikering anginkan dengan memiringkan preparat pada kertas tisu.
- 5) Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 100 kali.

4. Pembuatan Suspensi Stok untuk Pengujian

- 1) Secara aseptik diambil dengan jarum ose dari stok aksenik kemudian digoreskan secara zigzag pada medium NA miring dalam tabung reaksi. Setiap isolat dikultur sebanyak 5 tabung reaksi. Biakan dikultur selama 2 hari.
- 2) Biakan yang sudah berumur 2 hari dipanen dengan cara kelima tabung reaksi diberi larutan ringer steril masing-masing sebanyak 2 ml, kemudian dikocok menggunakan *vortex mixer* sampai semua koloni bakteri larut.
- 3) Supernatan dibuang, *pelet* disuspensikan dengan larutan ringer steril sebanyak 10 ml lalu disentrifugasi dengan kondisi yang sama dengan di atas.
- 4) *Pelet* hasil sentrifugasi yang terakhir disuspensikan dengan larutan ringer sampai volumenya 10 ml.

- 5) Jumlah spora suspense dihitung dengan *haemocytometer*.
5. Penyiapan larva *Culex* Instar Tiga untuk Pengujian

Larva nyamuk *Culex* sebanyak 10 ekor dipelihara dalam *bottle jam* yang berisi 200 ml air sumur. Larva *Culex* tersebut didapatkan dari Pasar Hewan Yogyakarta. Larva diberi pakan pellet ikan secukupnya yang sudah dihaluskan, dipelihara sampai instar tiga (Jati dkk, 2013).
6. Pengujian toksisitas isolat *B. thuringiensis*

Isolat *B. thuringiensis* diuji toksisitasnya terhadap larva nyamuk *Culex* Linn. instar tiga, masing masing diulang empat kali. Tiap perlakuan menggunakan 10 ekor larva nyamuk *Culex* Linn. instar tiga. Uji toksisitas bertujuan untuk mengetahui isolat *B. thuringiensis* yang mampu membunuh 50 % larva *Culex* (Jati dkk, 2013).



HASIL dan PEMBAHASAN

Lokasi Potensi Sumber Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Hasil pengambilan sampel bakteri *B. thuringiensis* yang didapatkan di Kabupaten Lahat, Palembang Sumatera Selatan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Lokasi Wilayah Pengambilan Sampel *Bacillus thuringiensis* di Kabupaten Lahat, Sumatera Selatan

Kecamatan	Kelurahan	Sumber	Keterangan
Gumay Talang	Muara Tandi	Persawahan	Terindikasi adanya <i>Bacillus thuringiensis</i>
	Batay	Pinggir sungai	Tidak Tumbuh Pada Medium Agar
	Darmo	Pekarangan Rumah Warga	Spreader
Jaray	Karang Tanding	Kebun Cabai	Spreader
	Lawang Agung Lama	Sekitar Selokan	Terindikasi adanya <i>Bacillus thuringiensis</i>
Kikim Barat	Bandarjaya	Kebun Tomat	Terindikasi adanya <i>Bacillus thuringiensis</i>
	Lubuk Seketi	Pekarangan Rumah Warga	Tidak Tumbuh Pada Medium Agar
Kikim Selatan	Beringin Jaya	Persawahan	Terindikasi adanya <i>Bacillus thuringiensis</i>
Kikim Tengah	Muara Lingsing	Persawahan	Terindikasi adanya <i>Bacillus thuringiensis</i>
	Sukaraja		Spreader

Hasil Uji Toksisitas Isolat *Bacillus thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Culex*

Hasil analisis uji toksisitas isolat *Bacillus thuringiensis* yang diambil di wilayah Palembang, Sumatera Selatan terhadap kematian larva nyamuk *Culex* menunjukkan bahwa seri pengenceran yang digunakan dalam uji toksisitas memiliki pengaruh yang berbeda nyata antara lamanya pemberian isolat bakteri *B. thuringiensis* dengan jumlah kematian larva nyamuk *Culex*. Pada penelitian ini, digunakan bakteri *B. thuringiensis* yang telah dilakukan pengenceran mulai dari 10^{-4} hingga 10^{-6} dan larva nyamuk *Culex* instar ketiga yang didapatkan di Pasar Hewan Yogyakarta.

Dalam penelitian ini, dilakukan pengenceran dari 10^{-4} hingga 10^{-6} yang bertujuan untuk mengurangi kepadatan bakteri yang ditanam. Selain itu, pada penelitian ini juga dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C . Inkubasi ini bertujuan untuk memperbanyak bakteri yang kita inginkan sehingga lebih mudah untuk dilakukan pengamatannya. Setelah itu, dilakukan pengulangan sampel masing-masing sebanyak tiga kali. Hal ini dilakukan untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan antar sampel uji. Tahap terakhir dari proses ini adalah menyeleksi isolat yang bisa dilakukan pengujian dari kriteria berdasarkan hasil uji kemurnian bakteri sebelumnya sehingga hasil pengujian toksisitas dapat maksimal.

Setelah dilakukan proses pengenceran, langkah selanjutnya adalah dilakukan uji toksisitas yang bertujuan untuk melihat efektifitas isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* dalam membunuh larva nyamuk *Culex*.

Hasil uji toksisitas Isolat *B. thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Culex* dapat dilihat pada Tabel 5-9.

Tabel 5. Hasil Uji Toksisitas Isolat *B. thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Culex* dengan pengambilan sampel di Kecamatan Gumay Talang, Kelurahan Muara Tandi

Durasi Pemberian	Seri Pengenceran		
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
24 jam	8	5	3
48 jam	9	5,3	4,7

Keterangan: jumlah larva nyamuk yang dipakai sebanyak 10 individu

Tabel 6. Hasil Uji Toksisitas Isolat *B. thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Culex* dengan pengambilan sampel di Kecamatan Jaray, Kelurahan Lawang Agung Lama

Durasi Pemberian	Seri Pengenceran		
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
24 jam	8	5	3,5
48 jam	9	7	5

Keterangan: jumlah larva nyamuk yang dipakai sebanyak 10 individu

Tabel 7. Hasil Uji Toksisitas Isolat *B. thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Culex* dengan pengambilan sampel di Kecamatan Kikim Barat, Kelurahan Bandarjaya

Durasi Pemberian	Seri Pengenceran		
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
24 jam	8,5	4	3,5
48 jam	9,5	5	5

Keterangan: jumlah larva nyamuk yang dipakai sebanyak 10 individu

Tabel 8. Hasil Uji Toksisitas Isolat *B. thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Culex* dengan pengambilan sampel di Kecamatan Kikim Selatan, Kelurahan Beringin Jaya

Durasi Pemberian	Seri Pengenceran		
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
24 jam	8	4,5	3
48 jam	9	5,5	3,5

Keterangan: jumlah larva nyamuk yang dipakai sebanyak 10 individu

Tabel 9. Hasil Uji Toksisitas Isolat *B. thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Culex* dengan pengambilan sampel di Kecamatan Kikim Tengah, Kelurahan Muara Lingsing

Durasi Pemberian	Seri Pengenceran		
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
24 jam	8,5	5,5	3
48 jam	9,5	7	4,5

Keterangan: jumlah larva nyamuk yang dipakai sebanyak 10 individu

Berdasarkan penelitian ini, pada Tabel 4, 5, 6, 7, dan 8 hasil uji antara durasi pemberian isolat bakteri *B. thuringiensis* terhadap kematian larva nyamuk *Culex* menunjukkan bahwa isolat *B. thuringiensis* yang diambil di wilayah Kabupaten Lahat, Palembang, Sumatera Selatan mampu membunuh larva nyamuk *Culex* dalam kurun waktu 24 dan 48 jam.

Jumlah kematian larva nyamuk *Culex* yang diberi isolat *B. thuringiensis* yang diambil di wilayah Kecamatan Gumay Talang, tepatnya pada Kelurahan Muara Tandi mengalami penurunan pada setiap seri pengenceran yang dilakukan. Hal ini ditunjukkan pada seri pengenceran 10^{-6} dalam kurun waktu 24-48 jam, rata-rata rentang jumlah kematian larva nyamuk *Culex* adalah 3,3 dan 4,7 dengan jumlah larva nyamuk *Culex* yang digunakan sebanyak 10 ekor.

Jumlah kematian larva nyamuk *Culex* yang diberi isolat *B. thuringiensis* yang diambil di wilayah Kecamatan Jaray, tepatnya pada Kelurahan Lawang Agung Lama mengalami penurunan pada setiap seri pengenceran yang dilakukan. Hal ini ditunjukkan pada seri pengenceran 10^{-6} dalam kurun waktu 24-48 jam, rata-rata rentang jumlah kematian larva nyamuk *Culex* adalah 3,5 dan 5 dengan jumlah larva nyamuk *Culex* yang digunakan sebanyak 10 ekor.

Jumlah kematian larva nyamuk *Culex* yang diberi isolat *B. thuringiensis* yang diambil di wilayah Kecamatan Kikim Barat, tepatnya pada Kelurahan Bandarjaya mengalami penurunan pada setiap seri pengenceran yang dilakukan. Hal ini ditunjukkan pada seri pengenceran 10^{-6} dalam kurun waktu 24-48 jam, rata-rata rentang jumlah kematian larva nyamuk *Culex* adalah 3,5 dan 5 dengan jumlah larva nyamuk *Culex* yang digunakan sebanyak 10 ekor.

Jumlah kematian larva nyamuk *Culex* yang diberi isolat *B. thuringiensis* yang diambil di wilayah Kecamatan Kikim Selatan, tepatnya pada Kelurahan Beringin Jaya mengalami penurunan pada setiap seri pengenceran yang dilakukan. Hal ini ditunjukkan pada seri pengenceran 10^{-6} dalam kurun waktu 24-48 jam, rata-rata rentang jumlah kematian larva nyamuk *Culex* adalah 3 dan 3,5 dengan jumlah larva nyamuk *Culex* yang digunakan sebanyak 10 ekor.

Jumlah kematian larva nyamuk *Culex* yang diberi isolat *B. thuringiensis* yang diambil di wilayah Kecamatan Kikim Tengah, tepatnya pada Kelurahan Muara Lingsing mengalami penurunan pada setiap seri pengenceran yang dilakukan. Hal ini ditunjukkan pada seri pengenceran 10^{-6} dalam kurun waktu 24-48 jam, rata-rata rentang jumlah kematian larva nyamuk *Culex* adalah 3 dan 4,5 dengan jumlah larva nyamuk *Culex* yang digunakan sebanyak 10 ekor.

Penurunan pada setiap peningkatan seri pengenceran menyebabkan jumlah bakteri isolat *Bacillus thuringiensis* semakin berkurang sehingga menurunkan efektivitas membunuh larva nyamuk *Culex*. Semakin tinggi tingkat pengenceran yang dilakukan, jumlah bakteri akan semakin berkurang sehingga menurunkan efektivitas membunuh larva nyamuk *Culex*, sedangkan semakin rendah tingkat pengenceran, jumlah bakteri akan semakin banyak sehingga meningkatkan efektivitas membunuh larva nyamuk *Culex* (Blondine dan Widyastuti, 1992). Hal ini dikarenakan jumlah bakteri yang didapatkan selama proses pengenceran akan berkurang sesuai dengan tingkat pengenceran yang dilakukan.

Efektivitas isolat bakteri *B. thuringiensis* dalam membunuh larva nyamuk dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti instar larva nyamuk, makanan larva nyamuk, periode pemaparan, kualitas air, strain bakteri, suhu air, adanya toksin dalam makanan larva dan perilaku dari larva tersebut (Becker dan Margalit, 1993).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Sampel isolat bakteri *B. thuringiensis* yang diambil pada Kelurahan Muara Tandi, Lawang Agung Lama, Bandarjaya, Beringin Jaya dan Muara Lingsing memiliki potensi sebagai sumber isolat bakteri *B. thuringiensis*.
2. Isolat bakteri *B. thuringiensis* yang diambil pada Kelurahan Muara Tandi, Lawang Agung Lama, Bandarjaya, Beringin Jaya dan Muara Lingsing mampu membunuh larva nyamuk *Culex* dengan seri pengenceran 10^{-4} pada setiap pengulangan sampel yang ada dengan rerata kematian sebesar 8-9,5. Dalam hal ini dapat disimpulkan bahwa pada setiap isolat yang digunakan mampu bekerja secara optimal dalam membunuh larva nyamuk *Culex* pada seri pengenceran 10^{-4} .

Saran

1. Lokasi pengambilan sampel yang cukup terpencil sehingga membutuhkan persiapan yang sangat baik serta stamina yang prima. Selain itu, lokasi pengambilan sampel harus wilayah yang teridentifikasi penyakit *Chikungunya* agar hasil yang didapatkan lebih valid dan dapat dipertanggungjawabkan.
2. Perlu dilakukan pengujian terhadap nyamuk vektor lain untuk mengetahui spesifitas patogenik dari isolat yang ditemukan.
3. Perlu dilakukan penelitian di lapangan untuk menentukan efektivitas isolat bakteri *B. thuringiensis* dalam pengendalian larva nyamuk *Culex* sehingga bakteri ini dapat dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* Sebagai Bioinsektisida. *Bulletin AgroBio*. 5(1):21-28.
- Becker, N., J. Margalit. 1993. *Uses of Bacillus thuringiensis israelensis againts Mosquitoes and Black Flies*. An Environmental Biopesticide Theory and Practice. John Wiley and Sons. England.
- Blondine, Ch. P., U. Widyastuti & Widia. 1992. Isolasi *Bacillus thuringiensis* dari Larva dan pengujian Patogenisitasnya terhadap Larva Nyamuk vector. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 27(1):178-179.
- Jati, W.N., Muwarni, I., Zahida, F. 2013. Isolasi, Purifikasi, dan Uji Patogenisitas Isolat *Bacillus thuringiensis* di Wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta Terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* Linn. Tidak Dipublikasikan.
- Kristina, 2004. *Demam Berdarah*.
<http://www.litbang.depkes.go.id/maskes/05/2004/demamberdarah1.htm>. Diakses 11 Juni 2014.
- Laras, K., Sukri, N. C., Larasati, R. P., Bangs, M. J., Kosim, R., Djauzi, Wandra, T., Master, J., Kosasih, H. & other authors (2005). Tracking the re-emergence of epidemic chikungunya virus in Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 99, 128–141.
- Mardihusodo, S.J. 1992. Aktivitas Larvasidal H-14 dan *Bacillus Sphaericus* 1593 terhadap Tiga Spesies Nyamuk Vektor Penyakit di Jawa. *Berkala Ilmu Kedokteran*. XXIV (2):51-56.